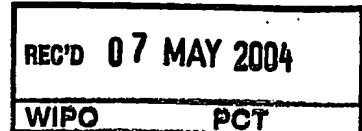


# 证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本



申 请 日: 2003. 03. 04

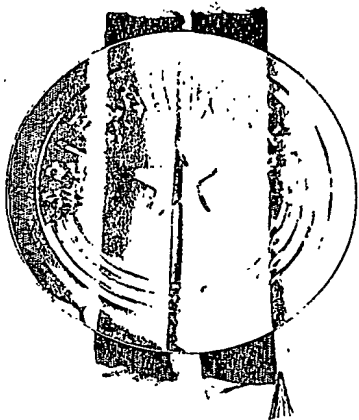
申 请 号: 03117397. 7

申 请 类 别: 发明

发明创造名称: 一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片及制备方法

申 请 人: 成都夸常科技有限公司

发明人或设计人: 邹方霖、陈春生、王建霞、陈宁



PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

中华人民共和国  
国家知识产权局局长

王 景 川

2004 年 4 月 6 日

BEST AVAILABLE COPY

## 权利要求书

1、一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其至少包括含有高疏水材料的反应器隔离结构和不疏水的固相载体或固定有探针的固相载体，其特征在于：所述高疏水材料的表面静态水接触角至少为 80 度，所述高疏水材料隔离结构高度最大为 1000um，所述反应器隔离结构中高疏水材料层与探针的距离最小为 0.1mm。

2、根据权利要求 1 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的高疏水材料的表面静态水接触角优选方案至少为 130 度、更优选方案至少为 150 度。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述高疏水材料隔离结构高度的优选方案为 0.1-60um、更优选方案为 0.1-30um，最优选方案为 0.1-10um。

4、根据权利要求 3 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的含高疏水材料的隔离结构与固相载体形成多个开放式反应器。

5、根据权利要求 4 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的反应器隔离结构主要包括由涂料、或漆、或乳胶、或墨，或其任意组合的高疏水材料涂料涂敷在基片表面干燥固化后形成的高疏水材料涂层；或主要包括由高疏水材料膜、或高疏水材料片、或高疏水材料粉、或高疏水材料板、或高疏水材料带，或其任意组合的固态高疏水材料通过加热融化或胶粘剂粘合形成的高疏水材料层。

6、根据权利要求 4 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的反应器高疏水材料隔离结构呈无色的，优选方案呈透明或半透明的，更优选方案呈透明的。

7、根据权利要求 4 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的反应器反应池之间的最小距离比其延伸线上的反应池宽度长，优选方案长 20%以上，更优选方案长 50%以上。

8、根据权利要求 4 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述生物芯片是在反应器中有加液区或/和出液区的开放式流动芯片。

9、根据权利要求 4 所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述生物芯片在其反应器隔离区内除高疏水材料结构外，

还包括有亲水基片表面。

10、根据权利要求4所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述生物芯片的结构除所述基片和所述高疏水材料外，还可以包括有成型板；成型板中可设有反应器的部分或全部加液结构或/和出液结构；反应器加液区和/或出液区中可包含有下列一种或一种以上的控制反应介质定向流动速度的结构：亲水材料层、疏水材料层、吸水材料层及有助于控制流动的导流沟、槽、条。

11、根据权利要求4所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：其基片上所述高疏水材料覆层的面积与基片总面积之比小于15%。

12、根据权利要求4所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述生物芯片是在基片的顶面和底面固定有探针的双面生物芯片，所述生物芯片的顶面和底面上的结构是对称的或不对称的。

13、根据权利要求5所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的高疏水材料是以硅氧烷键为基础的有机硅聚合物、共聚物或其高疏水衍生物。

14、根据权利要求5所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的高疏水材料为氟树脂，包括：氟树脂低聚体、聚四氟乙烯(PTFE)、共聚氟树脂(PFEP)、聚三氟氯乙烯、聚偏氟乙烯和氟树脂的高疏水衍生物，及以其制备的乳液、纳米级胶体和薄膜。

15、根据权利要求5所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的高疏水材料为聚丙烯、聚丙烯酸脂及其疏水衍生物。

16、根据权利要求5所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其特征在于：所述的高疏水材料为静态水接触角最小为150度的高疏水纳米材料；所述纳米材料中含有直径为1nm—100nm的功能性纳米微粒。


17、一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片的制备方法，其特征在于：包括如下步骤：

A、提供能够结合到基片上的、含高疏水材料的流体物质（包括溶液、涂料、油漆、墨水、凝胶、乳液、气凝胶）；

B、将所述流体物质涂覆在基片上需要形成高疏水隔离结构的位置；

C、干燥或/和加固剂固化涂覆物质以形成固态覆涂层。

18、一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片的制备方法，其特征



在于：包括如下步骤：

A、提供能够结合到基片上的、含高疏水材料的、已成型的固态物质（包括片、膜、板、带、粉）；

B、将所述固体物质以胶粘或/和热贴合方法结合在基片上需要形成隔离结构的位置。

# 说明书

## 一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片及制备方法

### 技术领域:

本发明涉及一种生物芯片,特别是一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片及制备方法,其中通过在亲水固相载体基片上结合高疏水材料,来形成或参与形成控制液相介质流动的反应器隔离结构,由于利用了高疏水材料与常规疏水材料不同的表面效应,从而更容易实现反应器隔离结构高度最小化,最终达到降低生物芯片检测成本的目的。

### 背景技术:

生物芯片,在本发明中也简称芯片,是一种定性和/或定量的检测产品,其原理是将微量探针以可寻址的方式固定在固相载体表面上,使其在检测条件下与生物样品中的目标分子发生特异反应,然后再对特异反应的结果进行识别。

目前最常用的生物芯片是多肽芯片和基因芯片。多肽芯片是以多个氨基酸的序列结构(包括蛋白质)作为探针固定在基片上制备的生物芯片。基因芯片是用待检标本中核酸、核苷酸与互补核酸、核苷酸探针杂交,形成杂交体,或与特异性抗体结合,再用呈色反应显示检测结果的芯片。

生物芯片有着广泛的应用范围,包括基因表达检测、基因筛选、药物筛选、疾病诊断治疗、环境监测和治理、司法鉴定等领域。

生物芯片的核心是其上的反应器。本发明中的生物芯片的反应器,是指生物芯片中固定有探针阵列,在检测时与目标物发生特异性反应的场所及与其连通的其它相关结构。本发明中的生物芯片的探针,包括所有可以以可寻址的方式固定在固相载体上的具有生物活性的物质,包括DNA、多肽、蛋白质、细胞、组织等生物成分。在本发明中,基片是指生物芯片中用作固相载体固定探针阵列的部件;探针板是指固定有探针阵列的基片。在本发明中,按照生物芯片上反应器的数目 $n$ ,生物芯片被定义为单反应器生物芯片( $n=1$ )和多反应器生物芯片( $n$ 等于或大于2)。

本发明中,按照检测过程中所加入的液相介质能否在反应器中定向流动,反应器被定义为流动反应器和非流动反应器;以流动反应器和非流动反应器为特征的生物芯片被分别定义为流动生物芯片和非流动生物芯片。本发明中,按照反应器探针阵列上方在整个检测过程中是否开放,将反应

器分别定义为开放式和非开放式反应器；以此反应器为特征的生物芯片，被分别定义为开放式和非开放式生物芯片。生物芯片反应器通常同时具有上述几种反应器的性质。本发明中，这些反应器被定义为以其所具有的全部性质为共同特征的反应器，以此反应器为特征的生物芯片也被同样地定义。例如，如果在检测过程中探针阵列上方为无覆盖物的开放结构，则所加入的液相介质能在反应器中定向流动，则该反应器被定义为开放式流动反应器，相应的生物芯片被定义为开放式流动生物芯片，或简称开放式流动芯片；其它以次类推。

目前生物芯片的现状如下：

### 一、无隔离结构生物芯片

最先发展起来、目前仍广泛使用的生物芯片是无隔离结构生物芯片，通常是单反应器开放式非流动芯片，一个例子是以显微镜载玻片为基础，经活化和点样制成、无其它新增结构的芯片。其优点是结构简单，点样和扫描操作均简便易行，部分操作还可在外力推动下的介质流动状态下进行（例如喷液清洗）。此种芯片的缺点是当探针种类较少、探针阵列较小时，例如肽芯片或蛋白质芯片的情况，由于一个反应器只需固定数量不多的探针（例如几个至几百个），单反应器芯片就显得效率太低，加大了生产和检测成本。这种情况下生物芯片的实际应用受到了很大限制。

### 二、有隔离结构生物芯片

在检测样品中目标物种类不多，例如小于 100 种，从而每个反应器中固定的探针种类不多的情况下，通常决定芯片成本的正是每个反应器在基片固定探针的面上所占平均面积。此外，为了减小样品加入量也需要对液相介质的流动进行限制。再就是，由于广泛地使用光学扫描装置，反应器隔离结构的厚度受到一定限制，趋于零的隔离结构高度是降低对扫描装置技术要求的一个重要途径。为了提高效益，生产商和科技工作者对无隔离结构生物芯片进行了很多改进，从而开发出一些有隔离结构生物芯片。有隔离结构生物芯片可以分为不可拆卸的和可拆卸的两类。

目前市场上有一种隔离结构不可拆卸的生物芯片，是一种多开放式非流动反应器芯片，其基本结构为：在一块尺寸为  $25\text{ mm} \times 75\text{ mm}$  或  $26\text{ mm} \times 75\text{ mm}$ （宽 $\times$ 高）的标准基片上，以中等疏水材料（表面接触角在 50 度到 75 度之间，例如聚脂或 PVC）形成反应器隔离结构，从而可以在基片上形成几到几十个圆形或方型的开放式反应器。此一芯片的隔离结构仍是以厚度差作为控制液相介质流动。在此类芯片中，开放式反应器隔离区如太低会出现

相邻反应器之间的交叉污染，如其太高则对芯片扫描仪的技术要求提高。

此外，目前也有一种隔离结构可拆卸的生物芯片或一种反应器数目最大化的生物芯片。但主要的缺点是操作复杂，或其反应器之间的隔离结构仍不能实现厚度最小化。

总之，目前的生物芯片，在某些应用中的隔离结构高度最小化，仍是一个待解决的问题。

#### 发明内容：

本发明提供一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片及制备方法，其中隔离结构主要是表面静态水接触角至少为  $80^\circ$  的高疏水材料层，高疏水材料层的厚度最大为  $1000\mu\text{m}$ ，由于实现了隔离结构高度最小化，可以使得反应器数目最大化和样品加入量最小化更容易实现。

我们在研制输血检测芯片、肿瘤标记物检测芯片和肝炎检测芯片的过程中，为了让研制的芯片除了有更好的质量，而且在价格上也要比目前通用的 Elisa 试剂盒更具有竞争力，于是深深地感觉到提高此类生物芯片中的成本控制因素之一的基片的使用效率是解决问题的关键。此外，亦深深地感觉到通过降低检测时对扫描仪的技术要求来降低对扫描仪的投资，反应器隔离结构高度是一个重要因素。因此，把“隔离结构高度最小化和反应器数目最大化”作为一个重要的研究课题，形成了本发明的芯片。

在本发明中，术语“反应器”包含探针区、隔离区、有或无加样区和出液区。探针区是反应器中以直接或间接的方式固定有探针的区域；加液区是向反应区加入各种检测所需反应介质的区域；出液区是反应完成后的液体和洗涤液离开反应器的区域；隔离区是在反应器的边界上为避免交叉污染而制作的隔离区域。隔离结构是隔离区内为防止反应器之间发生交叉污染而设计的控制液体流动的结构。根据不同的隔离机理，隔离区内有不同的隔离结构。

本发明是以生物芯片中在隔离结构高度最小化条件下的单位面积基片上反应器的数目最大化为追求目标，即使用一个生物芯片和一台普通的扫描仪能够检测最多的样品数为目的。随着近年来新材料和表面工程技术的发展，各种新材料和功能涂层材料在各领域的应用也得到了迅猛的发展。本发明生物芯片的隔离结构，基于水溶液在亲水性材料和高疏水性材料之间的流动中断的隔离机理，主要是高疏水性材料涂层或高疏水性材料层。

在本发明中，高疏水材料被定义为表面静态水接触角大于  $80^\circ$  的材料，亲水材料被定义为表面静态水接触角小于  $60^\circ$  的材料。长时间以来，用一

滴液体在固体物质表面的接触角  $\theta$  作为特定固定湿润的量化测试，这一点是被广为认可的。如果液体完全分散在表面上形成膜，接触角  $\theta$  为 0、如果物质表面上的液珠存在一定角度，该表面被认为是不湿润的。生物芯片中最常用的固相载体基片材料为玻璃，其表面静态水接触角约为 45 度。

在固定有一组探针从而要求检测反应中每根探针有相同的反应环境的生物芯片中，尚未有仅利用高疏水性来进行反应器之间的隔离的报道。在我们的研究中，我们发现高疏水性可以独立地作为生物芯片的反应器隔离机制，有效地把水溶液限制在高疏水材料包围的亲水基片表面。表 1 列出了一些高疏水材料涂层的隔离效果。

表 1 一些高疏水材料涂层的隔离效果

高疏水涂层	静态水接触角	涂层宽度	涂层厚度	亲水基片表面积	加水量	90 度垂流
有机硅涂料	95 度	1mm	30-40um	16mm <sup>2</sup>	20ul	-
纳米纺织物	155 度	1mm	400um	16mm <sup>2</sup>	30ul	-
纳米氧化硅 CDJ7	160 度	1mm	20-30um	16mm <sup>2</sup>	30ul	-
创可喷	85 度	1mm	< 5um	16mm <sup>2</sup>	15ul	-
无涂层基片	45 度	-	-	16mm <sup>2</sup>	10ul	+

表中 90 度垂流是指将生物芯片相对水平面旋转 90 度，观察水往下垂流，有流动为阳性反应 (+)，无流动为阴性反应 (-)。

本发明的具体技术内容如下：

一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片，其至少包括含有高疏水材料的反应器隔离结构和不疏水的固相载体或固定有探针的固相载体，其特征在于：所述高疏水材料的表面静态水接触角至少为 80 度，所述高疏水材料隔离结构高度最大为 1000um，所述反应器隔离结构中高疏水材料层与探针的距离最小为 0.1mm。

本发明所述高疏水材料的表面静态水接触角优选方案至少为 130 度、更优选方案至少为 150 度。

本发明所述的高疏水材料隔离结构高度的优选方案为 0.1-60um、更优选方案为 0.1-30um，最优选方案为 0.1-10um。

本发明所述的含高疏水材料的隔离结构与固相载体形成多个开放式反应器。

本发明所述的反应器隔离结构主要包括由涂料、或漆、或乳胶、或墨，或其任意组合的高疏水材料涂料涂敷在基片表面干燥固化后形成的高疏水材料涂层；或主要包括由高疏水材料膜、或高疏水材料片、或高疏水材料



粉、或高疏水材料板、或高疏水材料带，或其任意组合的固态高疏水材料通过加热融化或胶粘剂粘合形成的高疏水材料层。

本发明所述的反应器高疏水材料隔离结构呈无色的，优选方案呈透明或半透明的，更优选方案呈透明的。

本发明所述的反应器反应池之间的最小距离比其延伸线上的反应池宽度长，优选方案长 20% 以上，更优选方案长 50% 以上。

本发明是在反应器中有加液区或/和出液区的开放式流动芯片。

本发明在其反应器隔离区内除高疏水材料结构外，还包括有亲水基片表面。

发明中的生物芯片的结构除所述基片和所述高疏水材料外，还可以包括有成型板；成型板中可设有反应器的部分或全部加液结构或/和出液结构；反应器加液区和/或出液区中可包含有下列一种或一种以上的控制反应介质定向流动速度的结构：亲水材料层、疏水材料层、吸水材料层及有助于控制流动的导流沟、槽、条。

本发明在其基片上所述高疏水材料覆层的面积与基片总面积之比小于 15%。

本发明其是在基片的顶面和底面固定有探针的双面生物芯片，所述生物芯片的顶面和底面上的结构是对称的或不对称的。  
本发明所述的高疏水材料是以硅氧烷键为基础的有机硅聚合物、共聚物或其高疏水衍生物。

本发明所述的高疏水材料为氟树脂，包括：氟树脂低聚体、聚四氟乙烯 (PTFE)、共聚氟树脂 (PFEP)、聚三氟氯乙烯、聚偏氟乙烯和氟树脂的高疏水衍生物，及其制备的乳液、纳米级胶体和薄膜。

本发明所述的高疏水材料为聚丙烯、聚丙烯酸脂及其疏水衍生物。

本发明所述的高疏水材料为静态水接触角最小为 150 度的高疏水纳米材料；所述纳米材料中含有直径为 1nm—100nm 的功能性纳米微粒。

本发明所述的一种反应器隔离结构高度最小化的生物芯片的制备方法，包括如下步骤：

A、提供能够结合到基片上的、含高疏水材料的流体物质（包括溶液、涂料、油漆、墨水、凝胶、乳液、气凝胶）；

B、将所述流体物质涂覆在基片上需要形成高疏水隔离结构的位置；

C、干燥或/和加固化剂固化涂覆物质以形成固态覆涂层。

其中的固化反应，包括氧化聚合型（例如含干性油改性的漆等）、溶剂挥

发型(例如常温干燥固化的清漆等)、固化剂固化型、加温固化型、生物酶催化型(例如大漆等)、等等。

本发明所述的反应器隔离结构高度最小化的生物芯片的另一种制备方法,包括如下步骤:

A、提供能够结合到基片上的、含高疏水材料的、已成型的固态物质(包括片、膜、板、带、粉);

B、将所述固体物质以胶粘或/和热贴合方法结合在基片上需要形成隔离结构的位置。

本发明的技术方案的基本原理如下:

本发明所述高疏水材料隔离结构与固相载体形成多个开放式反应器,高疏水材料层与探针的距离最小为 0.1mm、优选方案最小为 0.3mm。这是因为芯片与随机固定探针的其它产品不同,前者有多条探针而后者仅一条探针。由于芯片要求每一条探针的反应环境相同,根据本发明的实验,此一最小距离有利于检测的可重复性。

本发明所述的反应器隔离结构主要是由可固化的高疏水材料涂料,包括涂料、或漆、或乳胶、或墨或其任意组合涂敷在基片表面干燥固化后形成的高疏水材料涂层,或主要是由以膜、片、粉、板、带的形式的高疏水材料通过加热融化或胶粘剂粘合形成的高疏水材料层。其中,高疏水材料涂层被定义为用物理、化学或其它方法在基片表面形成的一层厚度在 0.1 $\mu$ m-1mm 之间的具有高疏水功能的覆盖层。在本发明中,高疏水材料涂料是指可以形成高疏水材料涂层的物质。

另一方面,在根据本发明的生物芯片中,所述反应器隔离结构中的高疏水材料为在检测时产生最低的扫描应答的无色材料,优选方案为透明或半透明的材料,更优选方案为透明的材料。根据实验验证,使用优选方案尤其是更优选方案,隔离结构的存在不会明显增大本底干扰。

本发明在所述反应器隔离结构中,所述的反应器反应池之间的最小距离比其延伸线上的反应池宽度长,优选方案长 20%以上,更优选方案长 50%以上。较宽的隔离区有利于使反应器间的交叉污染的可能性最小化。

本发明提供的生物芯片,其反应器隔离区内除高疏水材料结构外,还包括有亲水基片表面。根据本发明的实验验证,此一亲水基片表面有利于滞留少量水溶液,从而减小交叉污染风险。

在根据本发明的生物芯片中,基片的材料包括所有可以以较小的平均面积形成生物芯片反应器的、表面静态水接触角小于 60 度的材料,例如无

机材料如玻璃、硅和硅化合物等，聚丙烯、聚氯乙烯、聚苯乙烯、尼龙及硝酸纤维素等有机高分子聚合物，以及表面覆盖有金、银等金属、金属化合物的有机材料。

本发明的生物芯片的优点是：由于实现了隔离结构高度最小化，可以使得反应器数目最大化和/或样品加入量最小化更容易实现。

附图及其图面说明：

图 1 本发明所用高疏水材料均为液体材料的多反应器生物芯片的基本结构图

图 2 本发明所用高疏水材料均为固相材料的多反应器生物芯片的基本结构图

图 3 本发明所述的多反应器开放式流动生物芯片的基本结构图

图 4 本发明所述的多反应器生物芯片的基本结构图

图 5 本发明所述的双面生物芯片的基本结构图

1、基片 2、隔离结构 3、反应池 4、探针 5、加液区 6、出液区  
具体实施方式：

本发明实施例中使用的基片，均为玻璃基片，尺寸为 75X25X1mm，其表面活性基团为氨基。玻片为显微镜载波片，玻片表面氨基化参考蒋中华等著《生物分子固定化技术及应用》（北京，化学工业出版社，1998）。

#### 实施例 1：多反应器生物芯片

本例中的生物芯片的基本结构如图 1 所示。

在本例中，所用基片为玻璃材质基片，所用高疏水材料均为液体材料，分别为“超高疏水乳胶漆”（中国成都晨光化工设计院提供）、“有机硅防水涂料”（中国成都晨光化工设计院提供）和“聚丙烯酸脂涂料”（中国成都晨光化工设计院提供）。

在本实施例中，基片 1 的尺寸为 75×25×1 mm（长×宽×高），高疏水材料均匀涂抹在基片上的隔离区中，按供货方的使用说明在室温干燥后固化，形成图 1 中所示的涂层隔离结构 2，与基片形成 16 个反应池 3，反应池尺寸为 3mmX3mm。在基片此一表面上，除反应池以外均布满高疏水材料涂层，涂层厚度等参数见表 2。

芯片制成后，在高疏水材料涂层包围的反应池 3 的探针区 4 内固定探针，探针区 4 与高疏水隔离结构 2 的最小距离为 100um。三种探针分别为 HCV 抗原、HIV<sub>1+2</sub> 抗原和梅毒抗原。每种探针是 3 个点，形成一个 3X3 探

针阵列。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。

表 2 四种不同隔离材料的生物芯片基本数据

芯片	高疏水材料	静态水接触角	涂层厚度	颜色	与探针最小距离
A	超高疏水乳胶漆	>120 度	20-40um	无色、半透明	100um
B	有机硅防水涂料	~95 度	20-40um	半透明	100um
C	聚丙烯酸脂涂料	~85 度	20-40um	无色、半透明	100um
D	无	~45 度	-	-	-

在本实施例中, 1 号样为 HCV 抗体阳性血清, 2 号样为 HIV<sub>1+2</sub> 抗体阳性人血清, 3 号样为梅毒抗体阳性人血清, 4 号样为阳性对照物 (HCV 抗体, HIV<sub>1+2</sub> 抗体和梅毒抗体阳性血清对照物的混合物), 5 号样品为阴性对照物 (HCV 抗体, HIV<sub>1+2</sub> 抗体和梅毒抗体都为阴性的血清对照物)。所有的样品, 均是经使用经典的单反应器开放式芯片在同等反应条件下预先检测确定的。实验时取上述 4 种芯片 A、B、C、D 各一块, 每一块上 1、2、3 号样品各作 3 孔, 阴阳性血浆对照各作 2 孔, 空白对照作 1 孔, 结果取相同探针结果的均值。实验时, 加样量为 10ul, 洗涤液每次加入量为 15ul, 标记物加入量为 10ul。反应条件与使用经典的单反应器开放式芯片相同, 实验结果如表 3。

表 3 流动生物芯片的检测结果

样品	HCV 抗体				HIV1+2 抗体				梅毒抗体			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1 号	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
2 号	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
3 号	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
4 号	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 号	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

## 实施例 2: 多反应器生物芯片

本例中的生物芯片的基本结构如图 2 所示。

在本例中, 所用基片为玻璃材质基片, 所用高疏水材料均为固相材料, 分别为"聚四氟乙烯不干胶带" (中国成都晨光化工设计院提供, 静态水接触度 117 度) 和"纳米纺织物" (中国舟山明日纳米材料公司提供, 静态水接触度 155 度)。

在本实施例中,基片 1 的尺寸为  $75 \times 25 \times 1$  mm (长 $\times$ 宽 $\times$ 高),高疏水材料被开孔后分别粘合在基片上的隔离区中,在室温干燥后,形成图 2 所示的高疏水隔离结构 2,与基片 1 形成 16 个反应池 3,反应池尺寸为  $4.5\text{mm} \times 4.5\text{mm}$ 。高疏水材料层厚度分别为:聚四氟乙烯不干胶带 100 $\mu\text{m}$ (颜色为黑色);纳米纺织物 400 $\mu\text{m}$ 。

芯片制成后,在反应池内距高疏水材料涂层 0.5mm 以外的探针区 4 固定与实施例一相同的探针。每种探针是 3 个点,形成一个  $3 \times 3$  探针阵列。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。

在本实施例中,所用样品、加液量及反应条件与实施例一相同,实验结果亦与实施例一相同。

### 实施例 3: 多反应器开放式流动生物芯片

本例中的生物芯片的基本结构如图 3 所示。图中左面为俯视图,右面为 a-a 剖视图,其中间虚线部分是活化玻片基片 1,基片的尺寸为  $75\text{mm} \times 5\text{mm} \times 1\text{mm}$  (长 $\times$ 宽 $\times$ 高),基片固定于有加液结构和出液结构的塑料成型板上,成型板外型尺寸为  $80\text{mm} \times 25\text{mm} \times 1\text{mm}$  (长 $\times$ 宽 $\times$ 高),其上的加液结构和出液结构为宽 2mm 的沟槽,沟槽中有导流的亲水材料。基片上的反应池外围是涂覆的一层超高疏水"纳米氧化硅 CDS7"(中国舟山明日纳米材料公司提供)形成的超疏水隔离结构 2。按供货方的要求,在含有胶粘剂的溶液中强力分散后,即均匀涂抹在基片上的隔离区中,在室温干燥后固化,形成图 3 中所示的接近透明的涂层,成型板与基片形成 16 个反应池 3,反应池直径为 3.0mm。如图 3 所示,每个反应器上有加液区 5 和出液区 6。在基片此一表面上,在反应池 3、加液区 5 和出液区 6 以外涂有宽 2mm 的高疏水的隔离结构 2,涂层厚度 20 $\mu\text{m}$ -30 $\mu\text{m}$ 。样品从加液区加入后,经过反应区流向出液区。芯片制成后,在反应池内距高疏水材料涂层 0.5mm 以外的探针区 4 内固定与实施例一相同的探针。每种探针是 3 个点,形成一个  $3 \times 3$  探针阵列。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。

在本实施例中,所用样品与实施例一相同,加样量为 10 $\mu\text{l}$ ,洗涤液加入速度约为 30 $\mu\text{l}$ /分钟,标记物加入量为 10 $\mu\text{l}$ 。反应条件与使用普通的开放式流动芯片相同,实验结果与实施例一相同。

### 实施例 4: 多反应器生物芯片

本例中的生物芯片的基本结构如图 4 所示。

在本例中，所用基片为玻璃材质基片，所用高疏水材料分别为“有机硅防水涂料”（中国成都晨光化工设计院提供）和一种汽车自喷漆（创可喷，HD-036，B-92P，黑珍珠，中国上海启阜实业发展公司）。"有机硅防水涂料"及"创可喷"分别均匀涂抹或喷射在基片上的隔离区中，在室温干燥后固化，形成图4中所示的接近透明或黑色的涂层，与基片形成16个反应池3。涂层厚度分别为20-40 $\mu\text{m}$ 和小于5 $\mu\text{m}$ ，宽度分别为1.5mm。高疏水涂层2之间为基片表面。

芯片制成后，在反应池内距高疏水材料涂层0.5mm以外的探针区内固定与实施例一相同的探针。每种探针是3个点，形成一个3 $\times$ 3探针阵列。芯片用牛血清白蛋白封闭后备用。

在本实施例中，三种不同材料隔离结构的芯片所用样品、加液量及反应条件与实施例一相同，实验结果亦均与实施例一相同。

#### 实施例5：双面生物芯片

本实施例中的生物芯片的基本结构如图5所示。

基片1的尺寸为75 $\times$ 25 $\times$ 1 mm（长 $\times$ 宽 $\times$ 高），其顶面和底面上各涂覆有一厚度为30-40 $\mu\text{m}$ 的“有机硅防水涂料”（中国成都晨光化工设计院提供）涂层2，形成一行八列两面共16个反应池3，孔径为4.5 mm，二面上的反应池3互相错开。本实施例中所用探针如图1探针所示，为3 $\times$ 3的阵列，先后在两面上的16个反应池3中固定探针，然后用牛血清白蛋白封闭，干燥后备用。在本实施例中，所用样品、加液量及反应条件与实施例一相同，所不同的是，检测时，先把芯片立着夹放，加样品时先缓缓地加一面，再加另一面，洗涤时也是先冲洗一面，再冲洗另一面，实验结果亦与实施例一相同。

说明书附图

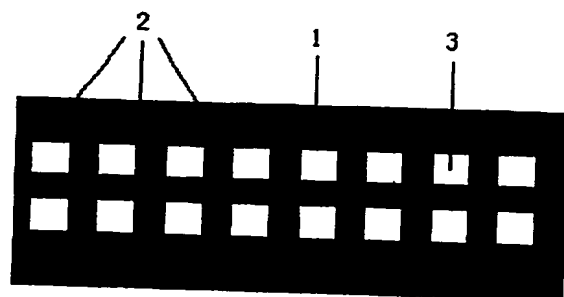


图 1

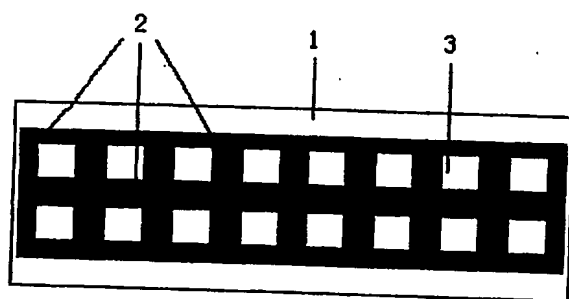


图 2

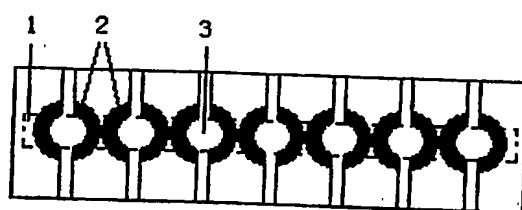


图 3

# 说明书附图

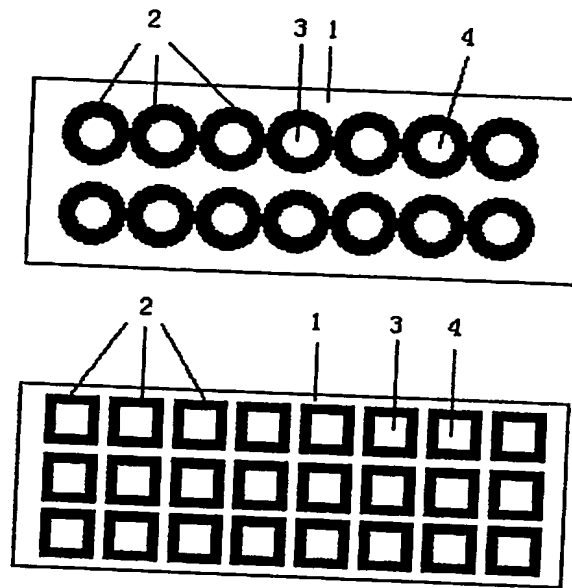


图 4

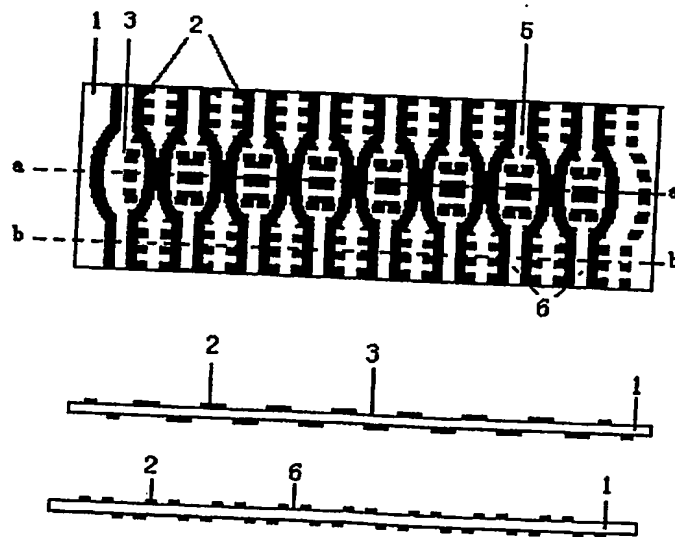


图 5



This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**